„Untersuchungen über das Vorkommen von fetalen Erythrocyten im mütterlichen Blut bei Morbus haemolyticus neonatorum."

Margarete Luise Kratz

1962

Aus der I. Frauenklinik und Hebammenschule der
Universität München
Direktor: Professor Dr. W. Bickenbach

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VORKOMMEN VON FETALEN ERYTHROCYTEN IM MÜTTERLICHEN BLUT BEI MORBUS HAEMOLYTICUS NEONATORUM

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwigs-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von

Margarete Luise Kratz

aus Dessau

München 1963

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Bickenbach

Mitberichterstatter:

Dekan: Prof. Seitz

Tag der mündlichen Prüfung: 8. Mai 1962

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

UNI - DRUCK, München 13, Amalienstraße 85

Meiner Mutter

in großer Dankbarkeit gewidmet.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
A.	EINLEITUNG	1
1.	Morbus haemolyticus neonatorum als Faktor der perinatalen Mortalität.	1
2.	Untersuchungen zur Pathogenese des Morbus haem. neonatorum.	2
a)	Durchlässigkeit der Placenta für Rh-Antigene und Antikörper.	2
b)	Untersuchungen der Placenta und anderer Gewebe als Rh-Antigen tragende Substanzen.	2
c)	Die pathologisch-histologischen Veränderungen der Placenta im Zusammenhang mit der Pathogenese des M. haemolyticus neonatorum.	4
d)	Zusammenhang zwischen dem Antikörpertiter der Mutter, den placentaren Veränderungen und dem Grad der kindlichen Schädigung.	5
3.	Das Vorkommen von fetalen Erythrozyten im mütterlichen Kreislauf.	6
a)	Eigenschaften des fetalen Hb im Gegensatz zum Hb des Erwachsenenblutes und die darauf beruhenden Untersuchungsmethoden.	6
b)	Hb-F Gehalt des Nabelschnurblutes und des Retroplacentarblutes: (Ergebnisse verschiedener Autoren)	7
B.	PROBLEMSTELLUNG	9
C.	METHODIK	10
D.	ERGEBNISSE DER EIGENEN UNTERSUCHUNGEN	11
1.	Hb-F Gehalt des Nabelvenenblutes und des mütterlichen Venenblutes:	
a)	bei normalen, Rh-Geburten	11
b)	bei Geburten nichtgeschädigter Kinder rh-Mütter (Coombstest negativ).	13

Seite

2. Anstieg des fetalen Hb im Laufe der Schwangerschaft 15
a) bei Rh-Müttern 15
b) bei rh-Müttern, bei denen keine Antikörper aufgetreten waren. 17
3. HbF-Gehalt des Venenblutes von Müttern, die im Laufe der Schwangerschaft einen Rh-Antikörpertiteranstieg gezeigt hatten, und deren Neugeborene durch den M.haem.neonatorum (M.h.n.) geschädigt waren. 20

E. DISKUSSION 26

F. ZUSAMMENFASSUNG 29

G. LITERATURVERZEICHNIS 31

A. EINLEITUNG

1. Das Auftreten des Morbus haemolyticus neonatorum stellt für die Geburtshilfe auch heute noch ein großes Problem dar. Aus einer Statistik des Jahres 1957 (20) geht hervor, daß bei 2,2 % aller perinatalen kindlichen Todesfälle als Ursache eine serologische Unverträglichkeit zwischen Mutter und Kind gefunden wurde; von diesen Kindern waren nur 0,13 % lebend geboren worden. Trotz der Einführung des Blutaustausches in die Therapie des M.h.n. durch Wiener, Wallenstein und Diamond (37), durch die sich die Lebensaussichten der an dieser Erkrankung leidenden Kinder von ehemals 80 % Mortalität auf 5 - 10 % gebessert haben (10, 11), zeigen doch diese Zahlen, daß der M. h.n. weiterhin von klinischer Bedeutung ist.

Die Ursache dieser Erkrankung wurde schon von Levine als Folge einer Sensibilisierung der Mutter durch die Rh-Antigene der Frucht erkannt, jedoch ist die Frage, auf welchem Wege diese Antigene durch die Placentaschranke in den mütterlichen Organismus gelangen können, bis heute nicht ganz geklärt. Nachdem die Placenta selbst als antigentragende Substanz durch Martius (26) ausgeschlossen wurde, und dadurch eine Sensibilisierungsmöglichkeit nur noch durch den Übertritt fetaler Erythrocyten in den mütterlichen Organismus angenommen werden kann, beschäftigen sich die neueren Untersuchungen über die Pathogenese mit der Frage nach dem Vorkommen fetaler Zellen im mütterlichen Blut.

Bickenbach (5) hatte dies für die intervillösen Räume nachweisen können. Oehlert und Betke (30, 3) versuchten dann diesen Nachweis auch für das periphere Blut der Mutter bringen zu können und haben verschiedene Methoden zur Darstellung des fetalen Hb (Hbf) angewandt, bzw. entwickelt.
Auf Grund dieser Ergebnisse haben wir uns in dieser Arbeit die Aufgabe gestellt, zu untersuchen, ob bei Morbus haemolyticus neonatorum (M. h.n.) ein vermehrtes Auftreten fetaler Erythrocyten im mütterlichen Blut nachzuweisen sei, und versucht, dadurch zu einer weiteren Klärung der Pathogenese dieser Erkrankung beizutragen.

2. Als Ursache der Entstehung des M.h.n. wurde schon vor der Entdeckung des Rhesus-Faktors durch Wiener (38) eine Blutgruppenunverträglichkeit zwischen Mutter und Kind angenommen. Levine (21) stellte die noch heute gültige Theorie auf, daß die Mutter bei einer heterospezifischen Schwangerschaft durch die Blutgruppenantigene der Frucht sensibilisiert werden kann; die durch sie gebildeten Antikörper können diaplacentar auf die Frucht übergehen, sodaß es im Organismus des Kindes zu einer Antigen-Antikörperreaktion kommt (3), die zu den verschiedenen Erscheinungsformen des M.h.n. führt.
Dieser tritt in Abhängigkeit vom Grad der Schädigung in drei verschiedenen Formen auf (27):
1. als Anaemia neonatorum
2. als Icterus gravis
3. als Hydrops fetus universalis.

a) Zur Klärung der Pathogenese dieser kindlichen Schädigung wurde versucht, die Möglichkeit einer Durchlässigkeit der Placenta für Antikörper und Antigene zu erklären. Es stellte sich heraus, daß ein Durchtritt durch die Placenta in Richtung von der Mutter zum Kind nur für Immunantikörper, die nach einer Sensibilisierung im Organismus entstehen - im Gegensatz zu den Normalagglutininen, den gegen Kaninchenblut gerichteten Antikörpern, und den Isoagglutininen, die auf Zellen von Individuen der gleichen Art (Rupp) einwirken, - möglich ist. Zu diesen Immunagglutininen gehören die Agglutinine, die die Sensibilisierung beim M.h.n. herbeiführen.
Ein Übertritt von Antigenen in Richtung von der Mutter auf die Frucht wird von den meisten Autoren abgelehnt. (24). Dagegen sprechen aber klinische und serologische Befunde für den Übertritt von Rh-Antigenen von der Frucht auf die Mutter (24); wobei die Frage, auf welche Weise dies geschehen kann, zu Untersuchungen über das Vorkommen des Rh-Antigens an anderen Stellen des Organismus als an den Erythrocyten und über die pathologischen Veränderungen der Placenta, die einen Übertritt der mit Rh-Antigenen beladenen roten Blutkörperchen in die mütterliche Strombahn möglich machen, geführt hat.

b) Wiener und Sonn (39) nahmen an, daß eine Sensibilisierungsfähigkeit der Mutter gegen die Rh-Antigene der Frucht von einem allelen Genfaktor K und k (der jedoch nur bei 0,2 % aller Menschen reinerbig als KK vorhanden ist) abhängig ist.

Dagegen spricht jedoch das relativ häufige Auftreten des M.h.n. bei 2,5 % aller rh-Mütter. Eine kindliche Schädigung tritt in 0,3 - 0,5 % aller Geburten bei Rh/rh heterospezifischen Schwangerschaften auf (33, 22).
Die Untersuchungsergebnisse von Bolhuis (24) dagegen stimmen mit dem tatsächlichen Auftreten des M.h.n. überein: Bei 16 von 122 untersuchten, gesunden Plazenten fand er durch Antikörperabsorptionsversuche einen Antikörpertiterabfall. Dasselbe gelang ihm bei 31 von 36 untersuchten Plazenten, die durch M.h.n. verändert waren.
Er machte dieses Placentaantigen für die Sensibilisierung der Mutter verantwortlich.
G. Martius (24) konnte jedoch ein Vorkommen von Rh-Antigenen außerhalb der Erythrozyten selbst ausschließen. Er fand bei seinen Antikörperabsorptionsversuchen, die er mit konglutinierenden Anti-Rh-Seren durchführte, in keiner der untersuchten Plazenten eine Titersenkung. Er zeigte, daß die von anderen Autoren beschriebenen Titersenkungen durch agglutinierende Anti-Rh-Seren ausgelöst waren, und deshalb eine unspezifische Hemmung durch Phosphatide, wie Lecithin und Cholesterin, die u.a. in Gewebszellen der Plazenta vorkommen, bedeuteten.
Das gleiche negative Ergebnis brachten die Versuche am Speichel, Nabelschnurgewebe und am Blutserum. - Feingewebliche Untersuchungen der Plazenta, um die - seit Eppinger und Rössle bekannte - Antwort des Organismus bei einer Antikörperbindung an Antigene in Form von Gewebsveränderungen, festzustellen, zeigten, daß "die Stromaveränderungen bei Plazenten des M.h.n. ausschließlich auf eine sich intravasal abspielende Antigen-Antikörperreaktion hinweisen. Zeichen für eine zellständige Antikörperbindung an Antigentragende Zottenepithelien fehlten dabei vollständig." (25)
Zu der gleichen Auffassung kommt Seelen (23), der ebenfalls bei 37 untersuchten Plazenten keine Titersenkung feststellen konnte. Er lehnt damit eine Sensibilisierungsmöglichkeit der Mutter durch evtl. vorher losgelöste Zellen des Trophoblasten ab. (Schmorl hatte das Vorkommen von Chorionzellen und kleinsten Zottenteilen in den verschiedensten Organen Gravider beschrieben.)
Auf Grund dieser Untersuchungen kommt Bickenbach zu dem Ergebnis, daß ein Sensibilisierungsvorgang nur durch einen Übertritt der mit Rh-Antigenen behafteten fetalen Erythrocyten von der Frucht zur Mutter möglich ist (5).

c) Die pathologischen Veränderungen der Plazenta beim M.h.n., die zum ersten Mal von Hellmann und Hertig genau definiert worden waren, wurden daraufhin von ihm untersucht. Hellmann und Hertig gaben folgende Veränderungen als charakteristisch für den M.h.n. an: (24)

1. Zottenvergrößerung mit Ausbildung großer Syncytiumzellen.
2. Persistenz der Langhans´Schicht über den 5. Monat.
3. Hyperplastische oder oedematöse Veränderung des Stromas.
4. Verminderung und periphere Anordnung der Gefäße in den Zotten mit Vergrößerung der Endothelzellen.
5. Vermehrtes Auftreten von Hofbauer-Zellen.
6. Erythropoeseherde im Zottenstroma.

Bickenbach deutete das Zottenoedem als Folge von Durchlässigkeitssteigerung der Gefäßwände, da es sich dabei um eine Ausfällung von Bluteiweiß und seröser Exsudation im Stroma und in den Gefäßwänden handelt, das Oedem also eine "Plasmadiapedese" bedeutet, der nach Ricker (9) eine "Leuko- und Erythrodiapedese" folgen kann. Bickenbach (5) wies bei 2 von 10 untersuchten gesunden Plazenten Einrisse der Zottengefäße mit Verbindung zu den intervillösen Räumen mikroskopisch nach. Er fand die gleichen Einrisse bei 4 von 10 untersuchten durch M.h.n. veränderten Plazenten. In allen diesen Plazenten fand er regelmäßig Erythroblasten, also fetale Zellen, in den intervillösen Räumen.

Eine weitere bestätigende Tatsache zeigte Billich (7), der in 7 untersuchten retroplazentaren Haematomen einwandfrei kernhaltige Erythrozyten fand, und dies als Stütze dafür ansieht, daß der fetale Blutübertritt als physiologisch anzusehen ist.

Nach diesen Befunden muß angenommen werden, daß die Sensibilisierung der Mutter während der ersten, wie auch während der weiteren Schwangerschaften durch den Übertritt antigentragender fetaler Erythrocyten erfolgt! Die Erstsensibilisierung erfolgt durch Erythrozytenübertritt "per rhexin" während der Geburt, die Sensibiliserung bei späteren Schwangerschaften als Folge von Erythrozytenübertritt "per diapedesin" im Laufe der Schwangerschaft (Bickenbach (6)).

Hörmann (13) dagegen kommt zu einer anderen Auffassung, indem er das Zottenoedem als unspezifische Reaktion auf verschiedene Noxen, z.B. Lues, ansieht, das aber nicht für eine Schädigung des Chorionepithels spricht, sondern zunächst Ausdruck einer erhöhten Durchlässig-

keit der fetalen Blutschranke bedeute. Das Auftreten von fetalen Zellen zwischen den Zotten sei besonders gut bei unreifen Chorionzotten zu beobachten und sei eine "künstliche Deportation durch die Bearbeitung des Materials." Die pathologischen Veränderungen der Plazenta bei Rh-Inkompatibilität sind die "Folgen von schweren Störungen in der Entwicklung des Zottengefäßapparates, die auf eine schon im ersten Drittel der Schwangerschaft einsetzende erhöhte Belastung des embryonalen Mesenchyms hinweisen". (12): "Es kommt zu einer Persistenz embryonaler Zottenstrukturen, Blutbildungsherden, dem vermehrten Auftreten von Hofbauerzellen und Resten der Langhans' Schicht, sowie zu weitgehendem Fehlen größerer Gefäße, Kapillaren und Praekapillaren zugunsten einer überstürzten, z.T. haemangiomartigen Kapillarisierung des Zottenstromas. Die syncytiale Oberfläche läßt jede funktionelle Differenzierung und damit auch weitgehend die Ausbildung von Stoffwechselmembranen vermissen. Der Zwischenzottenkreislauf zeigt ausgedehnte aneurysmatische Blutungen und Stase." Zottenrupturen hält Hörmann für ein "gelegentliches, zufälliges Ereignis, das aber für die Plazentapathologie keine Bedeutung haben könne".

d) Für die Annahme, daß zwischen der Höhe des Antikörpertiters, der placentaren Veränderung und dem Grad der kindlichen Schädigung ein Zusammenhang besteht, lassen sich nur wenig beweisende Befunde anführen. Beckmann, Feldmann und Schümmelfeder (14) untersuchten sehr eingehend 18 Plazenten, konnten jedoch keine Übereinstimmung dieser drei Faktoren feststellen. Ebenso fand Schaumkell (34) keinerlei Beziehung zwischen der absoluten Antikörperhöhe und dem Grad der kindlichen Schädigung, selbst wenn bereits hydropische oder totgeborene Kinder in der anamnese vorausgegangen waren.

Lediglich in einer neueren Arbeit von Thomsen und Berlé (42) wird eine Korrelation zwischen der Höhe des Antikörpertiters und dem Ausmaß der plazentaren Strukturveränderungen sowie einer Schädigung des Kindes herausgestellt. Die Autoren charakterisieren die pathologischen Veränderungen der Plazenta bei M.h.n. folgendermaßen: "am Zottenepithel treten erhebliche degenerative Veränderungen mit Kernverklumpung und trüber Schwellung auf; das Stroma zeigt extremes Oedem und Skleroseerscheinung ebenso wie mangelhafte Entwicklung des Gefäßsystemes, wodurch es zur Zottennekrose und sekundärer Zottenregeneration kommt; neue Blutbildungsherde weisen Verbindung mit

Zottenkapillaren auf." Diese Veränderungen, die sich auch schon makroskopisch durch ein starkes Übergewicht der Plazenta zeigten, traten zwar in der Mehrzahl der Fälle mit einem Titer über 1:256 auf, jedoch war es nicht möglich, diese Korrelation zwischen der Höhe des Antikörpertiters und dem Grad der Schädigung von Plazenta und Frucht in jedem einzelnen Fall nachzuweisen.
Zur gleichen Frage untersuchten Berndt, Bickenbach und Feldmann (4) einen Fall einer heterospezifischen Schwangerschaft: Mutter A N_1 rh, Vater heterozygot Rh.
Es war zu hohen blockierenden Antikörpertitern gekommen, obwohl das Kind die Blutgruppe 0 rh hatte. Dieser Anstieg bedeutete eine "anamnestische Reaktion", d.h. einen Antikörperanstieg in einem Organismus, der früher eine spezifische Sensibilisierung durchgemacht hatte. Es waren keine plazentaren Veränderungen im Sinne eines M.haemolyticus neonatorum zu finden, was wiederum gegen die Annahme, daß das Placentagewebe selbst die antigentragende Substanz sei, spricht, und beweist, daß keine direkte Beziehung zwischen Titerhöhe und plazentaren Veränderungen zu bestehen braucht.

3. Nach diesen, sich z.T. widersprechenden Auffassungen über die Möglichkeit eines Übertrittes fetaler Erythrozyten in die mütterliche Strombahn, der als Sensibilisierungsmechanismus anzusehen ist, lag es nahe, das Vorkommen fetaler roter Blutkörperchen im peripheren mütterlichen Blut zu untersuchen.

a) Die in neuerer Zeit entwickelten Methoden zum Nachweis für fetale Erythrozyten basieren auf dem unterschiedlichen Verhalten fetaler Erythrozyten gegenüber denen des Erwachsenenblutes.
Künzer und Drescher (16) haben als wichtigste Punkte folgende Unterschiede zwischen HbF und HbA hervorgehoben:
1. die schnellere Alkalidenaturierung des HbA als HbF
2. verschiedene Kristallstruktur
3. unterschiedliche Ultraviolettabresorption
4. höhere O_2-Affinität des Fetalen Hb- fraglich-
5. andere Aminosäurenzusammensetzung
6. verschiedene elektroph. Wanderungsgeschwindigkeit
7. unterschiedliche Sedimentierung in der Ultrazentrifuge
8. verschiedene immunbiologische Reaktionsweise.

Zu diesen Befunden stellt Betke (1) fest, daß eine fragliche höhere O_2-Affinität des kindlichen Blutes nur dann zu beweisen ist, wenn man das Verhalten des Gesamtblutes prüft, daß diese jedoch in reinen Hb-Lösungen nicht auftritt. Eine Besonderheit des menschlichen fetalen Hb aber sei es, daß es von MetHb-Bildnern, wie z.B. Nitritt, rund doppelt so schnell in MetHb umgewandelt würde wie das HbA. Aus diesen festgestellten Unterschieden wurden folgende Methoden zur Darstellung und quantitativen Bestimmung des HbF entwickelt:

1. Bestimmung des HbF mittels Alkalidenaturierung (35, 17, 18, 19)
   a) spektrometrische Messung nach Umwandlung des resistenten, postnatalen Hb in KatHb;
   b) Fällungsmethode: Denaturierung durch in gewissen Abständen unterbrochene Neutralisation, wobei das noch unverändert gebliebene Hb gemessen wird.

   Dabei ergibt sich, daß beide Methoden ihre Genauigkeitsgrenzen in verschiedenen Konzentrationsbereichen haben (17).

2. Positive Identifizierung der fetalen Zellen durch Messung des Anti-D-Titeranstieges nach der Geburt eines rh-Kindes mit Hilfe der direkten Agglutinationstechnik (15, 36).

3. Darstellung der fetalen Erythrozyten im mikroskopischen Ausstrichpräparat nach Eluierung des HbA aus den mütterlichen roten Blutkörperchen (2, 3).

b) Bei der Frage nach dem Gehalt des Nabelschnurblutes und Retroplazentarblutes an fetalem Hb kommen die Untersucher zu folgenden Ergebnissen:

Neumeyer (28) untersuchte mit Hilfe der Alkalidenaturierung das Nabelvenenblut bei normalen Geburten und Übertragungen und fand, daß bei Anstieg des GesamtHb des übertragenen Kindes als Ausdruck einer intrauterinen Hypoxie der fetale Anteil besonders beteiligt ist.
"Nabelvenenblut normaler, reifer Kinder enthält 77, 9 % HbF, wobei die Werte zwischen 65, 3 und 89, 4 % schwanken.
Nabelvenenblut übertragener Kinder enthält 69, 4 % HbF mit Schwankungen zwischen 52, 2 und 87, 0 %."
Untersuchungen von Bromberg (8) zeigten einen HbF-Anteil des GesamtHb Frühgeborener, der bis zu 94, 5 %, z.T. bis zu 100 % betrug. Außerdem stellt er einen Anstieg des HbF im mütterlichen Blut während der Schwangerschaft fest, der im Laufe von 2 Monaten p.p. zur Norm zurückkehrte.

"Aus dem erhöhten und fortgesetzt ansteigenden HbF-Gehalt im Blut der Schwangeren ist eine Blutung des Foeten durch die Plazenta in das Gefäßsystem der Mutter zu erkennen." Betke (1) fand ebenfalls 60 - 80 % HbF vom Gesamt-Hb im kindlichen Venenblut, das in den ersten 5 Lebensmonaten verschwindet. "Ein späteres Vorkommen von HbF bei älteren Kindern ist auf eine ererbte Störung zurückzuführen und auf diese Fälle beschränkt."

Oehlert und Michel (29) fanden mit Hilfe der Alkalidenaturierungsmethode 78 % HbF im Nabelvenenblut. "Dieser Wert ist am genauesten festzustellen bei einer Schwangerschaftsdauer von 273 bis 289 Tagen p. menstr. Bei einem Gewicht des Neugeborenen von weniger als 3000 g besteht ein deutlicher Anstieg, der bis zu 90 % betragen kann." Spektrometrische Untersuchungen des Retroplacentarblutes (30) ergaben einen mittleren Gehalt von 6,79 % HbF, wobei aber die Mehrzahl der Werte bis über 59,9 % lagen. In 11 von 29 untersuchten Fällen, die einen HbF-Gehalt von mehr als 6,79 % zeigten, ließ sich ein fet. Hb im mütterlichen Blut nachweisen in einem Prozentsatz, der die bei Erwachsenen und Schwangeren als normal zu betrachtende Grenze von 0,7 % bei weitem übertraf. (31). Er faßt diesen kindlichen Blutverlust in das mütterliche Kreislaufsystem als Bestätigung einer Rhexisblutung auf, die von Bickenbach als Voraussetzung für den Übertritt antigentragender Erythrozyten und damit für eine Sensibilisierungsmöglichkeit bei heterospezifischen Schwangerschaften gefordert wurde.

B. PROBLEMSTELLUNG

Aufgabe dieser Arbeit sollte es sein, mit Hilfe der von Betke angegebenen Methode zur Darstellung fetaler Erythrozyten (2) folgende Punkte zu untersuchen, die evtl. zu einer Klärung der Pathogenese des M.h.n. beitragen könnten:

1. HbF-Gehalt des mütterlichen Blutes und des Nabelvenenblutes
   a) bei normalen, Rh-Geburten
   b) bei Geburten lebender, nicht geschädigter Kinder von rh-Müttern (Coombstest negativ).

2. Der Anstieg des HbF im Venenblut Schwangerer im Laufe der Gravidität:
   a) bei Müttern mit der Blutgruppe Rh
   b) bei Müttern mit der Blutgruppe rh, bei denen keine Antikörper aufgetreten waren.

3. HbF-Gehalt des Venenblutes von rh-Müttern, die im Verlauf der Schwangerschaft einen Rh-Antikörper-Anstieg gezeigt hatten, und deren Neugeborenen durch den M.h.n. geschädigt waren, bzw. nicht lebend geboren werden konnten.

Durch diese Untersuchungen soll die Frage geklärt werden, ob ein vermehrtes Auftreten der kindlichen Erythrozyten im Blut von Rh-sensibilisierten Müttern als antigentragende Substanz verantwortlich zu machen ist, und ob diese Tatsache zu einer neuen Möglichkeit der Frühdiagnostik über das Auftreten kindlicher Schäden führen kann.

C. METHODIK

Zu unseren Untersuchungen benutzten wir die Methode von Betke (2). Er hatte durch Verdauungsversuche festgestellt, daß der Blutfarbstoff aus den Erythrozyten Erwachsener durch Pepsin schneller herausgelöst wird, als aus den Zellen des Neugeborenenblutes; (eine Tatsache, die zeigt, daß HbF ein anderer Eiweißkörper ist als HbA, nicht aber nur eine Strukturvariante! (3)). Um diese Eluierung des HbA zu erreichen, genügt es, die in Alkohol fixierten Blutausstriche mit einem Citronensäurephosphatpuffer (ph 3,4-3,6) zu behandeln. Im mikroskopischen Bild sind dann die Erythrozyten des Erwachsenenblutes nur durch ihre Umrisse zu erkennen, während die fetalen roten Blutkörperchen als Hb-gefüllte rote Scheiben erscheinen (s.Abb.).

Bei der Herstellung gingen wir im Einzelnen nach folgendem Schema vor:

1. Herstellung eines möglichst dünnen Ausstriches aus Citratblut (0,4 ccm Citrat + 1,6 ccm Blut)
2. Fixierung (5 Min. in 80 %igem Aethylalkohol) und Wässern der Präparate.
3. Elution in einem Citronensäurephosphatpuffer bei ph 3,2 für 4 - 6 Min. (Puffer: 0,2-m Na_2HPO_4 und 0,1-m Citronensäure im Mischungsverhältnis von 24,7 ml Citronensäure: 75,3 ml Na_2HPO_4-Lösung). Die Temperatur soll 37° betragen. Die Objektträger werden um langsam laufendes Rührwerk herumgestellt.
4. Färbung der gut gewässerten Präparate mit Hämatoxylin sauer nach Ehrlich und einer 0,1 %igen Erythrosinlösung.
5. Durchmusterung der gefärbten Präparate in der mittleren, dann Auszählung mit der starken Vergrößerung.

Um zufällige Häufungen von HbA- oder HbF-Zellen zu vermeiden, wurde jeweils eine Serie von Präparaten hergestellt und ausgezählt, aus denen dann die Durchschnittswerte gewonnen wurden.

D. ERGEBNISSE DER EIGENEN UNTERSUCHUNGEN

1. Hb-F-Gehalt des Nabelvenenblutes und des mütterlichen Venenblutes:

a) Bei normalen Rh-Geburten:

Um die später erwähnten Ergebnisse bei rh-Schwangerschaften und rh-Geburten verwerten zu können, wurden als erstes eine Reihe von 20 normalen Geburten untersucht und diese Werte mit den durch Alkalidenaturierungsmethode gewonnenen Ergebnissen anderer Autoren verglichen. Von den zur Entbindung in die I. Frauenklinik und Hebammenschule der Münchner Universität kommenden Frauen wurden 20 Geburten Rh-Mütter herausgesucht, ohne Rücksicht auf das Alter der Frauen oder die Zahl der vorausgegangenen Schwangerschaften. Das Durchschnittsalter lag bei 28,3 Jahren, wobei die jüngste Patientin 18, die älteste 42 Jahre alt war. Unter den Patientinnen waren 9 Erstgebärende.

Außer einer Vakuumextraction handelte es sich immer um Spontangeburten von reifen, ausgetragenen Kindern.
Eine Übersicht über die ausgewählten Fälle gibt Tabelle I (s.S.12).

Wir untersuchten bei allen Fällen den HbF-Gehalt des mütterlichen Venenblutes, des Nabelschnurblutes und bei einem Teil der Fälle auch das Retroplazentarblut.

Es ergaben sich folgende Werte:

a) mütterliches Venenblut zur Zeit der Geburt:
durchschnittlich 1,012 % HbF, wobei die Werte in 16 Fällen zwischen 0,9 und 1,1 % lagen.

b) Retroplazentarblut:
durchschnittlich 4,59 % HbF, wobei 4 von 15 untersuchten Fällen weit darüber lagen.

c) Nabelvenenblut:
durchschnittlich 79,11 % HbF, wobei 12 von 20 Werten zwischen 75,6 und 79,2 % lagen.

Tabelle I

HbF-Gehalt des mütterlichen Venenblutes, des Retroplacentarblutes und des Nabelschnurblutes bei 20 Rh+ -Geburten.

	Alter	Para	Tag d. Grav.	Gew.d. Neugeb.	HbF im: mütt.Bl.	Retro- pl. Bl.	Nabelv. Blut
1.	24 a	III.	279.	2500 g	1,2 %	4,8 %	79,2 %
2.	28 a	I.	276.	3310 g	0,9 %	-	75,6 %
3.	25 a	II.	279.	3710 g	1,02%	-	74,2 %
4.	42 a	I.	279.	3260 g	0,9 %	-	78,1 %
5.	40 a	VI.	312.?	3200 g	1,4 %	6,2 %	94,5 %
6.	20 a	I.	277.	3000 g	1,01%	63,2 %	89,0 %
7.	32 a	I.	279.	3300 g	1,05%	2,3 %	78,1 %
8.	36 a	VI.	286.	3450 g	1,03%	-	79,2 %
9.	42 a	II.	298.	3050 g	1,0 %	2,1 %	77,6 %
10.	21 a	I.	289.	3450 g	1,3 %	53,4 %	84,8 %
11.	22 a	I.	268.	3420 g	0,88%	31,5 %	83,9 %
12.	31 a	II.	276.	2970 g	0,9 %	-	76,0 %
13.	36 a	VIII.	290.	3850 g	1,02%	5,3 %	80 %
14.	20 a	III.	276.	2430 g	0,8 %	4,2 %	76,0 %
15.	25 a	II.	278.	2490 g	1,05%	3,7 %	85,6 %
16.	25 a	II.	274.	3300 g	1,0 %	7,9 %	68,7 %
17.	22 a	I.	290.	3540 g	1,1 %	4,9 %	88,9 %
18.	18 a	I.	284.	3680 g	1,1 %	5,9 %	80,4 %
19.	38 a	III.	286.	3570 g	1,1 %	5,7 %	78,9 %
20.	20 a	I.	279.	3540 g	1,1 %	5,4 %	78,9 %
	28,3 a		282,1		1,012 %	4,59 %	79,11 %

Bei einem Vergleich mit anderen Autoren stellten wir eine weitgehende Übereinstimmung der Ergebnisse fest: Für das mütterliche Venenblut fand Oehlert (29) allerdings einen HbF-Gehalt von durchschnittlich 0,18 ± 0,02 %, jedoch bezeichnet er an einer anderen Stelle (30) als Grenze der als zu normal betrachtenden Werte den HbF-Gehalt von 0,5-0,7 %. Krivit (15) fand ebenfalls 0,5 - 1,0 %. Er fand für das Retroplazentarblut einen Durchschnittswert von 6,79 %, wobei aber ebenfalls, wie oben schon erwähnt, mehrere Fälle mit ihren Werten weit darüber lagen. Die angegebenen Werte des Nabelvenenblutes liegen bei allen Autoren im gleichen Bereich:

Neumeyer (28) : 77,9 % (65,0-89 %)
Walker (41) : 77,8 %
Oehlert (29) : 78 %
Betke (1) : ca. 75 %

b) Bei Geburten nicht geschädigter Kinder rh-Mütter (Coombstest Ø):

Bei dieser Gruppe handelt es sich um 20 Mütter, die trotz einer Rh-rh-Heterospezifischen Schwangerschaft von gesunden Kindern entbunden wurden. Der direkt nach der Geburt angestellte Coombstest war bei allen Kindern negativ. Das Alter der Patientinnen lag im Durchschnitt bei 24,5 Jahren; die jüngste Patientin war 20, die älteste 39 Jahre. Unter ihnen waren 8 Erstgebärende. Bei 19 von ihnen wurden während der Schwangerschaft keine Rh-Antikörper gefunden. Bei Prüfung der gynaekologischen Anamnese ergab sich, daß 10 von den 12 Mehrgebärenden bereits gesunde Kinder zur Welt gebracht hatten; eine Zweitgebärende hatte vor einem Jahr eine Totgeburt, ob es sich jedoch um einen M.h.n. gehandelt hatte, war nachträglich nicht mehr zu klären; es schien allerdings unwahrscheinlich, da auch bei ihr keine Antikörper aufgetreten waren.
Bei einer Patientin wurden in den letzten Schwangerschaftswochen Antikörpertiter von 1:16, 1:24 und 1:32 festgestellt. Sie brachte ein gesundes Kind zur Welt, das die Blutgruppe 0 rh hatte. Ein Kind hatte sie nach Auftreten eines Icterus gravis verloren. Es handelte sich bei ihr also wahrscheinlich um eine von Bickenbach beschriebene "anamnestische Reaktion" (4), d.h. es kam zu einem Antikörper-Anstieg durch einen unspezifischen Reiz in einem Organismus, der früher eine spezifische Sensibilisierung durchgemacht hat.
Eine Übersicht über die Fälle gibt Tabelle II (s.S. 14).

Tabelle II

HbF-Gehalt im mütterl. Venenblut, im Retroplacentarblut und im Nabelvenenblut bei Geburten nichtgeschädigter Kinder von rh-Müttern (Coombstest negativ)

	Alter	Para	Tag d. Grav.	Gew.d. Neugeb.	HbF im: mütt.Bl.	Retro-pl.Bl.	Nabelv. Blut
1.	21 a	I.	293.	3310 g	1,4 %	6,5 %	72,7 %
2.	24 a	II.	295.	3800 g	1,04 %	5,43 %	79,7 %
3.	39 a	V.	300.?	3650 g	1,2 %	-	-
4.	20 a	I.	297.	3220 g	0,8 %	5,9 %	95,7 %
5.	24 a	II.	283.	3250 g	1,4 %	-	74,1 %
6.	25 a	II.	276.	3210 g	1,02 %	-	-
7.	24 a	I.	273.	3240 g	1,1 %	5,9 %	77,5 %
8.	23 a	II.	281.	3000 g	1,1 %	1,3 %	79,8 %
9.	21 a	II.	284.	3470 g	1,2 %	1,4 %	79,9 %
10.	28 a	III.	267.	2260 g	1,1 %	-	78,0 %
11.	22 a	II.	291.	3970 g	1,1 %	-	-
12.	22 a	I.	300.	3130 g	1,3 %	-	68,0 %
13.	35 a	VI.	267.	2570 g	0,8 %	-	85,7 %
14.	25 a	I.	283.	3160 g	0,95 %	-	77,6 %
15.	29 a	II.	279.	3050 g	1,0 %	4,4 %	75,8 %
16.	26 a	I.	278.	3550 g	1,1 %	5,75 %	76,9 %
17.	26 a	II.	280.	3500 g	0,85 %	4,9 %	75,7 %
18.	20 a	II.	282.	3320 g	1,1 %	-	77,8 %
19.	28 a	I.	279.	3350 g	1,05 %	6,3 %	78,2 %
20.	24 a	I.	277.	3330 g	1,1 %	5,4 %	76,9 %
	24,5 a		283,2		1,0855%	4,743%	76,96%

Die durchschnittliche Schwangerschaftsdauer der untersuchten Frauen lag bei 283,2 Tagen. Die Ergebnisse für den prozentualen Gehalt an HbF liegen nach unseren Untersuchungen bei folgenden Werten:

a) mütterliches Venenblut: durchschnittlich 1,0855 %
(wobei 12 von 20 zwischen 0,9 und 1,1 % liegen)

b) Retroplacentarblut : durchschnittlich 4,743 %

c) Nabelvenenblut : durchschnittlich 76,962 %
(wobei die Mehrzahl d. Fälle zwischen 75 und 79 % liegen)

2. Der Anstieg des fetalen Hb im Laufe der Schwangerschaft

a) bei Rh-Schwangerschaften

Es wurde das Blut von 10 graviden Frauen zwischen der 25. und 40. Schwangerschaftswoche untersucht. Bei 5 von ihnen konnte regelmäßig Blut abgenommen werden (in kürzeren Abständen) bei den anderen Frauen handelt es sich um ein- oder zweimalige Untersuchungen. Das Durchschnittsalter der Patientinnen lag bei 25,7 Jahren. Eine Übersicht über die Ergebnisse gibt Tabelle III, S. 16. Dabei zeigt sich bis zur 30. Woche ein relativ steiler Anstieg bis zu einem HbF-Gehalt von 0,6 %, der dann nur allmählich ansteigt, um in der 37. Woche einen erneuten, etwas steileren Anstieg zu nehmen. Zum Zeitpunkt der Geburt erreicht er dann einen Wert von 1,0 - 1,1 %. Dieser Anstieg des HbF-Gehaltes im mütterlichen Blut entspricht der von Betke (1) angegebenen Konzentrationsveränderung des Gesamt-Hb im intrauterinen Leben: "Im 3., 4. und 5. Monat besteht ein rascher Anstieg, der gegen Ende der Entwicklungszeit im letzten Monat in ein annähernd gleiches Niveau von 15 - 16 % einmündet."

Tabelle III

Der Anstieg des HbF im mütterlichen Blut während der Schwangerschaft (Erklärung S.15).

	Alter	Para	Zeitp.d. Unters.	HbF im mütt. Blut
1.	38 a	III.	33. Woche	0,65 %
2.	27 a	I.	36. "	0,8 %
			40. "	1,10 %
3.	30 a	II.	30. "	0,55 %
4.	31 a	II.	29. "	0,4 %
			33. "	0,6 %
			35. "	0,65 %
			37. "	0,85 %
5.	24 a	II.	36. "	0,85 %
6.	24 a	V.	39. "	0,95 %
7.	25 a	II.	30. "	0,45 %
			35. "	0,6 %
			38. "	0,8 %
			40. "	1,05 %
8.	20 a	I.	34. "	0,7 %
			36. "	0,8 %
			39. "	1,1 %
			40. "	1,1 %
9.	20 a	I.	25. "	0,2 %
			26. "	0,25 %
			29. "	0,38 %
			34. "	0,65 %
			36. "	0,8 %
10.	18 a	I.	33. "	0,6 %
			35. "	0,7 %
			37. "	0,85 %
			40. "	1,1 %

b) Anstieg des fetalen Hb bei rh-neg. Müttern, bei denen keine Antikörper aufgetreten waren.

Venöses Blut von 14 Schwangeren, deren Antikörper-Titerkontrollen negative Ergebnisse gezeigt hatten, wurde, z.T. von der 24. Woche an, auf den HbF-Gehalt untersucht.
Das Durchschnittsalter dieser Frauen lag bei 26,4 Jahren. Von den 7 Mehrgebärenden unter ihnen hatte keine ein durch M. h. n., geschädigtes oder totes Kind geboren.
Ebenso gab keine von ihnen in der Anamnese eine Bluttransfusion oder -injektion an.

Die Untersuchungen ergaben folgende Ergebnisse: (Tabelle IV)

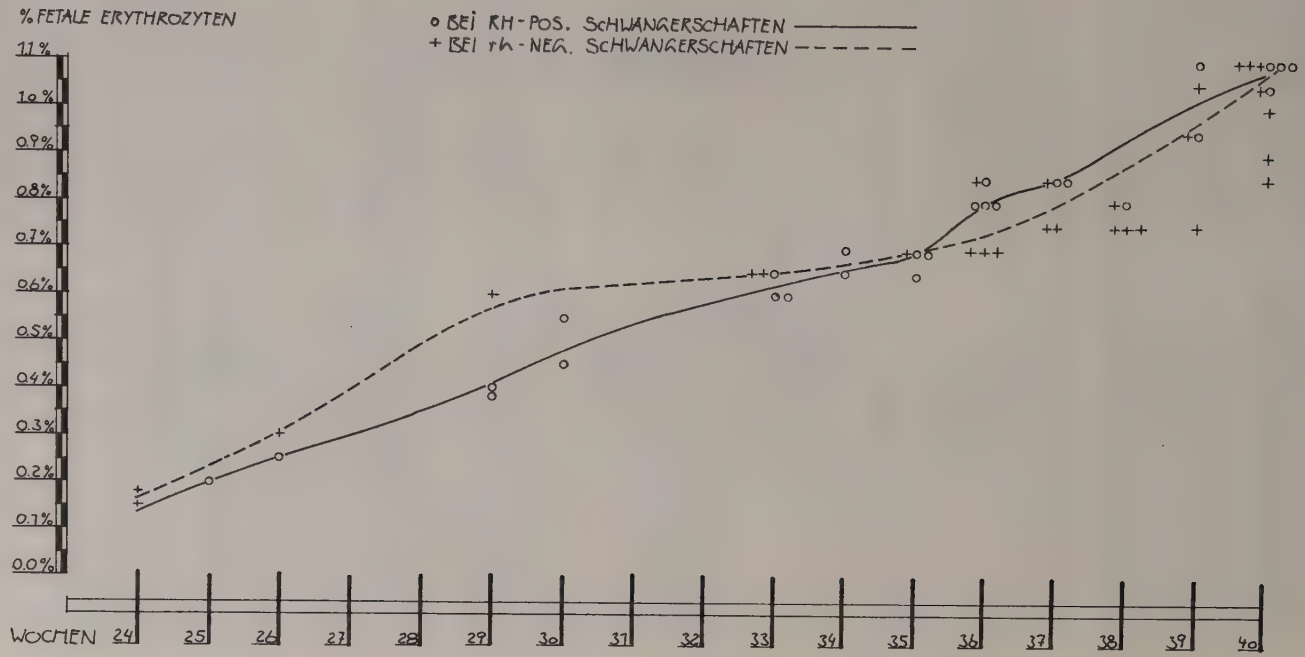
Tabelle IV

Übersicht über die Untersuchungsergebnisse bei rh- negativen Schwangeren ohne Rh-Antikörper.

	Alter Para	Zeitp. d. Unters.	HbF im mütt. Blut
1.	25 a I.	37. Woche	0, 75 %
		38. "	0, 8 %
		39. "	0, 95 %
2.	23 a II.	40. "	0, 9 %
3.	29 a II.	38. "	0, 75 %
		40. "	1, 0 %
4.	26 a I.	33. "	0, 65 %
		40. "	1, 1 %
5.	31 a I.	24. "	0, 15 % ?
6.	28 a II.	26. "	0, 3 %
7.	26 a II.	38. "	0, 75 %
		39. "	0, 75 %
		40. "	0, 85 %
8.	20 a II.	36. "	0, 7 %
		37. "	0, 75 %
		40. "	1, 1 %
9.	30 a II.	29. "	0, 6 %
10.	25 a I.	33. "	0, 65 %
		38. "	0, 75 %
11.	22 a I.	36. "	0, 7 %
		37. "	0, 85 %
		40. "	1, 05 %
12.	18 a I.	24. "	0, 18 %
13.	24 a I.	36. "	0, 85 %
		39. "	1, 05 %
		40. "	1, 10 %
14.	43 a VI.	35. "	0, 70 %
		36. "	0, 7 %

Bei der graphischen Darstellung dieser Kurve (Abb. 1, S. 19) kann man die gleiche Beobachtung im Kurvenverlauf machen, wie sie als charakteristisch für den Verlauf bei Rh-pos. Schwangerschaften geschildert wurde.

ANSTIEG DES HbF-GEHALTES IM MÜTTERLICHEN BLUT BEI HOMOSPEZIFISCHEN UND HETEROSPEZIFISCHEN SCHWANGERSCHAFTEN.



3. Vergleichende Darstellung der Ergebnisse aus den Untersuchungen über den HbF-Gehalt Rh- und rh-Mütter.

Um einen Unterschied der bei der Geburt Rh- und rh-Mütter gefundenen Werte statistisch ausschließen zu können, wurden die Mittelwerte und ihre Fehlergrenzen nach den mathematischen Formeln für "Mittelwert und Streuung von Verteilungen" (40) ausgerechnet und in Vergleich gesetzt.

1. Der arithmetische Mittelwert = m

$$m = \frac{\sum xy}{\sum y}$$

x = Prozentsätze
y = Häufigkeiten

2. Die Streuung (mittl. quadratische Abweichung) = σ

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum y\,(x - m)^2}{\sum y - 1}}\ \%$$

3. Der mittlere Fehler des Mittelwertes = fm

$$fm = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

n = Anzahl der Fälle

4. Die Fehlergrenzen des Mittelwertes liegen bei

$$m \pm 2\,fm$$

a) Für den HbF-Gehalt des mütterlichen Venenblutes ergaben sich daraus folgende Werte:

m = 1,05693 %
= 0,1766 %
fm = 0,027

Die Fehlergrenzen liegen bei

1,05693 ± 0,054 % HbF

b) Für den HbF-Gehalt des Retroplacentarblutes ergaben sich folgende Werte:

m = 4, 7175
= 1, 3545 %
fm = 0, 266

Die Fehlergrenzen des Mittelwertes liegen bei

4, 7175 ± 0, 532 % HbF

c) Für das Nabelvenenblut ergeben sich folgende Werte:

m = 77, 637
= 3, 559 %
fm = 0, 5851

Die Fehlergrenzen des Mittelwertes liegen bei

77, 637 ± 1, 171 % HbF im Nabelvenenblut.

Bei einem Vergleich dieser statistisch errechneten Mittelwerte mit ihren Streuungsbreiten zu den gefundenen Durchschnittswerten der beiden Gruppen (Rh- und rh-Mütter) ergibt sich das Ergebnis, daß die Durchschnittswerte nicht außerhalb der Fehlergrenzen liegen. (Tabelle V)

Tabelle V

Vergleich zwischen den statistisch errechneten Mittelwerten mit ihren Fehlergrenzen und den Ergebnissen bei Rh- und rh-Frauen ohne Antikörper.

	Mittelwert	Streuung	Fehler-grenzen	Rh-Geburten	rh-Geburten
Mütterl. Venenblut	1, 05693	0, 1766 %	1, 1109 1, 0029	1, 012	1, 0855
Retroplac. Blut	4, 7175	1, 3545 %	5, 2495 4, 1855	4, 59	4, 743
Nabelvenen-Blut	77, 637	3, 559 %	78, 808 76, 466	79, 11	76, 962

Aus der vorhergehenden Zusammenstellung geht klar hervor, daß der Gehalt des Blutes an fetalen Erythrozyten bei Müttern mit dem Faktor Rh sich in keiner Weise von dem rh-Mütter, bei denen keine Antikörper aufgetreten sind, unterscheidet.

2. Eine vergleichende Darstellung des HbF-Anstieges im Laufe homospezifischer und heterospezifischer Schwangerschaften zeigt die Abbildung 1. (s.S. 19)
Man erkennt an beiden Kurven den fast kongruent verlaufenden Anstieg, wie er schon bei der Auswertung der Ergebnisse der Schwangerschaftswerte Rh-Mütter näher besprochen wurde. (S. 15)

Zusammenfassend ergeben diese beiden Untersuchungsgruppen:

1. die Normalwerte des HbF-Gehaltes bei der Geburt;
2. den Anstieg des HbF-Gehaltes während der Schwangerschaft;
3. die Übereinstimmung dieser Werte bei Rh-Müttern und rh-Müttern ohne Antikörperbildung.

Diese Ergebnisse bilden die Grundlage für die Beurteilung der aus der nächsten Gruppe gewonnenen Werte, die den HbF-Gehalt im mütterlichen Blut bei auftretenden Antikörpertitern und einer kindlichen Schädigung im Sinne eines M.haemol.neonat. zeigen sollen.

III. HbF-Gehalt des Venenblutes von Müttern, die einen Rh-Antikörpertiteranstieg gezeigt hatten, und deren Neugeborenen durch den M.h.n. geschädigt waren.

Es wurde das Venenblut von 16 Schwangeren mit Rh-Antikörpern untersucht. Unter ihnen waren 3 Erstgebärende, die in ihren anamnestischen Angaben weder Bluttransfusionen, noch vorausgegangene Fehlgeburten erwähnten.

Von den Mehrgebärenden hatten 6 Frauen tote oder durch M.haemol. neonatorum geschädigte Kinder zur Welt gebracht. Eine genauere Übersicht gibt die Tabelle VI.

Tabelle VI

Übersicht über die untersuchten Fälle und die Höhe der Antikörpertiter.

	Alter	Para	Geb.hilfl. Anamnese	Jetzige Schwangerschaft	
				Antikörper-Titer	Zeitp.
1.	39 a	I.	Partus ♂	1 : 512	
			Abortus ♀		
2.	38 a	III.	56 Mißb. m. 7 Mon. ex.	1 : 256	
			58 gesundes Kind		
3.	30 a	IV.	55 Totgeb. Hydrops	1 : 1 pos., 1:10 neg.	23. Wo.
			Transfusion	1 : 10 pos., 1:100 neg.	26. "
			55 gesundes Kind	1 : 10 pos., 1:50 neg.	31. "
			57 Gemini, ex. d. Ict.	1 : 1000 pos.	33. "
			grav. nach wen. Tagen	1 : 256 pos.	37. "
4.	30 a	I.	Abortus ♂	1 : 256 pos.	33. "
5.	36 a	IV.	53 gesundes Kind	1 : 8 pos.	30. "
			56 gesundes Kind	Anti-Rh 1 : 32 incl.	36. "
			58 Totgeburt	Anti-A 1 : 64	36. "
				Anti-Rh 1 : 32	2 T. pp.
6.	32 a	III.	55 nach 2 Mon. ex. d.	1 : 32	27. Wo.
			Pneumonie	1 : 32	30. "
			61 tot d. M. h. n.	1 : 32	33. "
				1 : 32	37. "
7.	27 a	II.	57 Abortus	1 : 64 congl.	20. "
			58 gesundes Kind	1 : 512	28. "
8.	41 a	VII.	46 gesundes Kind	1 : 256	13. "
			47 gesundes Kind	1 : 512 incompl.	17. "
			51 gesundes Kind	1 : 512	23. "
			53 anaem., leb. Kind	1 : 1000 incompl.	29. "
			57 Aust., Sectio, ex.	1 : 128	33. "
			55 Totgeburt	1 : 256 incompl.	35. "
9.	34 a	III.	49 gesundes Kind	1 : 64	38. "
			57 n. 6 Wochen ad ex.		
10.	38 a	V.	gesunde Kinder	1 : 64	29. "
				1 : 4	35. "
11.	27 a	II.	58 gesundes Kind	1 : 256	36. "
12.	23 a	III.	58 Kind nach 3 Tagen ex.	1 : 8 aggl.	25. "
			59 Austausch lebt	1 : 8 incompl.	32. "
				1 : 2 aggl. 1 : 8 incl.	35. "
				1 : 2 aggl. 1 : 8 inc.	36. "

Fortsetzung der Tabelle VI auf Seite 24.

	Alter	Para	Geb. hilfl. Anamnese	Jetzige Schwangersch.	
				Antikörper-Titer	Zeitp.
13.	32 a	III.	53 u. 57 gesunde Kinder	1 : 128	38. Wo.
14.	27 a	II.		1 : 64	36. "
15.	36 a	I.		1 : 8	36. "
16.	26 a	I.	2 Aborte	Ø	26. "
				1 : 16	27. "

Bei den Kindern waren verschiedene Grade des M.h.n. aufgetreten. Von den lebend geborenen Kindern konnten 9 durch sofortige Austauschtransfusion gerettet werden. Sie wurden gesund nach Hause entlassen. In der folgenden Tabelle VII wurden die klinischen Befunde der Kinder im Zusammenhang mit den gefundenen HbF-Werten zusammengestellt.

Tabelle VII

Klinische Befunde der durch M.h.n. geschädigten Kinder von rh-Müttern (s. Tabelle VI) und die gefundenen HbF-Werte.

Tag d. Grav.	Angaben über das Kind	Geburts-verlauf	HbF im müttl. Bl.	Na. v. B.	Kindl. Hb.	Kindl. Ery
1.	260. Totgeb. 2560g	Spontangeb.	3, 9 %	74, 4		
2.	270. Hydrops, Maz. III°	Spontanausst.	3, 2 %			
3.	260. leb., reif, 3020	Sektio 800 ccm Blutaust.	5 ‰	61, 0 %	13, 6	3, 24
4.	227. Totgeburt	Spontan	3, 9 %	85 %		
5.	224. Gemini, beide tot 24log u. 2030	Spontang. u. Bracht (BEL)	4 ‰	83, 2 %		
6.	280. lebt, 3040g	Spontan, 800cm³ Blutaustausch	11 ‰		7, 2	1, 84
7.	246. Totgeb. 340g	Eiausst. i. tot	4, 3 %?	90, 9 %		
8.	257. leb., 3400g	Spontan, 100 ccm Austausch	4, 8 %?	83, 9 %	9, 0	
9.	266. leb., 3350g	Spontangeb.	4, 5 %	76, 2 %	12, 0	3, 74
10.	276. lebt, 2330g	Spontangeb. 700 ccm Aust.	8, 0 ‰		17, 4	4, 9
11.	265. leb., 3600g	Spontangeb. Austausch	2, 5 %	84, 7 %	11, 9	2, 04
12.	269. lebt, 2100g	Spontan n. E. Austausch	2 ‰	85, 2 %	9, 3 %	2, 89
13.	270. leb., 3200g	Spontan Austausch	2, 3 %		16, 6	4, 26
14.	257. lebt, 2500g	Spontan 700 ccm Aust.	9 ‰		20, 0	5, 10
15.	255. lebt, 2680g	Vacuum Coombstest neg.	4 ‰			
16.	244. lebt, 2450g	BEL, 620 ccm Austausch	2 ‰		15, 4	4, 42

Bei einer Durchschnittsdauer von 264, 1 Tagen p.m. lagen die Werte für das mütterliche Venenblur bei 0, 2 % bis 4, 8 % HbF des Gesamt-Hb. Der daraus berechnete Mittelwert liegt bei 2, 31 %.

E. DISKUSSION

Die Untersuchungen von Bickenbach (4) und anderen Autoren (34) zeigten, daß keine direkte Beziehung zwischen dem Antikörpertiter, den plazentaren Veränderungen und dem Grad einer kindlichen Schädigung beim M.h.n. festzustellen ist.

Bickenbach zeigte jedoch anhand von mikroskopischen Untersuchungen eine deutliche Durchlässigkeitserhöhung der Gefäßwände und konnte deutliche Einrisse der Zottengefäße mit Verbindung zu den intervillösen Räumen nachweisen. Diese Zottenrupturen hält Hörmann allerdings für ein "gelegentliches Ereignis" und faßt die pathologischen Veränderungen der Placenta als Entwicklungsstörungen des Zottengefäßeapparates auf, also nicht spezifisch für M.h.n.

Die neueren Ergebnisse von Oehlert (31) sprechen aber für die von Bickenbach angenommene Rhexis- und Diapedeseblutung als Voraussetzung für den Übertritt antigentragender Erythrozyten und damit für die Sensibilisierungsmöglichkeit bei heterospezifischen Schwangerschaften. In einigen von ihm untersuchten Fällen hatte er eine Erhöhung des HbF-Gehaltes im Retroplacentarblut und eine gleichzeitige Erhöhung im mütterlichen Kreislauf gefunden (s.S.11).

Martius (24) und Seelen (23) konnten, wie im ersten Teil der Arbeit ausgeführt wurde, andere Substanzen als die Erythrocyten als Rh-Antigentragende Substanzen ausschließen.

Um diesen Übertritt von roten Blutkörperchen in den mütterlichen Kreislauf zu beweisen, untersuchten wir mütterliches Venenblut in der Schwangerschaft und kurz vor der Geburt bei heterospezifischen und homospezifischen Schwangerschaften.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß entgegen unseren Erwartungen ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Frauen ohne und mit Antikörpern hinsichtlich des HbF-Gehaltes nicht festzustellen ist. Der HbF-Gehalt während der Schwangerschaft steigt bei Rh- und rh-Müttern in gleicher Weise an. Eine direkte Abhängigkeit des HbF-Gehaltes von der Höhe der Antikörper konnte nicht festgestellt werden. Weitere Untersuchungen müßten jedoch noch, um Endgültiges aussagen zu können, abgewartet werde. Jedenfalls ist durch diese Arbeit die Tatsache des Übertrittes fetaler Erythrocyten in

den mütterlichen Kreislauf einwandfrei bewiesen, wenn auch sowohl die Höhe der Antikörper als auch die Anzahl der fetalen Erythroszyten im mütterlichen Venenblut für die Prognose der kindlichen Schädigung nicht ausreicht. Diese Tatsache des Übertrittes fetaler Erythrocyten läßt den Schuß zu, daß corpusculäre Elemente die Placentaschranke durchbrechen können, die dann die Sensibilisierung mit ihren Folgen für die Frucht möglich machen.

Wir glauben, damit einen weiteren Beweis für die von Bickenbach aufgestellte Theorie der Rhexis- und Diapedeseblutung gefunden zu haben.

Die Frage nach dem genaueren Zeitpunkt dieses vermehrten Übertrittes fetaler Erythrozyten in den mütterlichen Kreislauf konnten wir durch unsere Ergebnisse noch nicht beantworten. Aus den Kurven der normalen Schwangerschaften (S. 19) ersieht man einen steileren Anstieg des HbF-Gehaltes etwa in der 35. Woche. Ob dieser Zeitpunkt auch bei sensibilisierten Schwangerschaften für den diaplazentaren Übertritt gilt, müßte ebenfalls durch weitere Untersuchungen geklärt werden. Dies würde aber eine klinische Beobachtung dieser Fälle schon von Beginn der Schwangerschaft, d.h. bei erstem Auftreten eines Antikörpertiters nötig machen. Dies war uns durch die leider oft zu späte Einweisung der meisten Fälle nicht möglich, und wir konnten unsere Blutabnahmen erst kurz vor der Entbindung vornehmen.

Die klinischen Erfahrungen bei der Behandlung des M.h.n. zeigen, daß die Austauschtransfusion bisher die erfolgreichste Therapie darstellt. Es tritt dabei jedoch immer wieder die Frage nach dem Zeitpunkt, der ein erfolgreiches Eingreifen verspricht, auf.

In vielen Kliniken, besonders konsequent aber in den angelsächsischen Ländern wird bei auftretenden Antikörpertitern eine frühzeitige Sectio am Ende der 34. - 35. Schwangerschaftswoche mit sofort anschließender Austauschtransfusion als bestmögliche Prophylaxe gegen schwerere kindliche Schädigungen angesehen und durchgeführt.

Dies beruht auf der von vielen Untersuchern beobachteten Erfahrung, daß die schwersten kindlichen Schädigungen meist erst im letzten Schwangerschaftsmonat auftreten.

Doch auch von deutscher Seite wird in neuerer Zeit auf die Notwendigkeit eines rechtzeitigen Eingreifens hingewiesen. Krebs und Haupt (41) zeigen dies deutlich durch eine Untersuchung von 168 mit Austauschtransfusion behandelten Fällen der Bonner Universitätsklinik in den Jahren 1949 - 1958. Dabei stellen sie eine Zunahme der M.h.n. - Fälle von 1 bis 35 pro Jahr

fest, wobei die Letalität bei einer durchschnittlichen Gesamtsterblichkeit von 11 % bis auf 6 % und weniger sank.

Die Bearbeitung des Krankengutes unter dem Gesichtspunkt der rechtzeitigen Einweisung deckte jedoch erhebliche Unzulänglichkeiten auf. (Als "rechtzeitig" eingewiesen betrachten die Autoren diejenigen Kinder, bei denen sofort nach Auftreten eines richtungsweisenden Symptoms, wie frühzeitiger und besonders starker Icterus, Leber- oder Milzschwellung etc., die Überweisung in die Klinik erfolgte; als "zu spät" eingewiesen werden die Kinder angesehen, bei denen trotzdem noch zugewartet wurde.) Dabei zeigen die Aufstellungen, daß in den letzten Jahren die zu späten Einweisungen prozentual zwar herabsanken, daß sie jedoch nie die 20%-Grenze unterschritten. Besonders bei den Einweisungen aus auswärtigen Krankenhäusern und aus der Praxis betrug der Prozentsatz der zu späten Einweisungen bis zu 67,5 %. Dies machte eine Austauschtransfusion oft erst am Ende des 3. Lebenstages (30 %) oder sogar noch später (13 %) möglich, und verringerte damit die Aussicht auf einen Erfolg sehr erheblich.

Diese Zahlen zeigen deutlich, daß das Problem der Frühdiagnose einer kindlichen Schädigung, die durch die Bestimmung des Antikörpertiters nicht erwiesen ist, noch immer nicht ausreichend gelöst ist.

Vielleicht können die Ergebnisse unserer Arbeit zu einer Klärung der Pathogenese des M.h.n. und damit zur Grundlage für die Entwicklung weiterer prophylaktischer Maßnahmen dieser sich so verhängnisvoll auswirkenden Erkrankung beitragen.

Die Genauigkeit der angewandten Methode versuchten wir durch Vergleich unserer Normalwerte mit den Ergebnissen anderer Autoren zu prüfen und zu belegen; (s.S.13). Wir konnten vor allem durch die Vergleichswerte des HbF-Gehaltes im Nabelschnurblut, der bereits von verschiedenen Autoren als zwischen 70 % und 80 % liegend angegeben wurde, wobei unser Durchschnittswert bei 76,92 % liegt, eine hinlängliche Genauigkeit für die Art unserer Untersuchungen feststellen.

F. ZUSAMMENFASSUNG

Aufgabe dieser Arbeit sollte es sein, durch Untersuchungen über den HbF-Gehalt des mütterlichen Venenblutes den Übertritt fetaler Erythrocyten in den mütterlichen Kreislauf im Zusammenhang mit der Pathogenese des M. haemolyticus neonatorum zu zeigen.
Nach ausführlicher Darlegung der bisherigen Untersuchungsergebnisse anderer Autoren über die mögliche Pathogenese des M.h.n., wird vor allem auf das Problem der histologischen Placentaveränderungen auf Grund der Befunde von Bickenbach und Hörmann eingegangen. Die Frage nach dem Sensibilisierungsmechanismus wird an Hand der Untersuchungen über einen fraglichen Antigengehalt der Placenta selbst erörtert. Aus den Versuchen von Martius, der diese Möglichkeit ausschloß, entwickelten sich Untersuchungen über den direkten Übertritt der Rh-Antigentragenden Erythrocyten durch die Placenta in den mütterlichen Kreislauf.

Wir haben kurz die verschiedenen Methoden zum Nachweis des fetalen Hb im Blut erwähnt, die sich aus den unterschiedlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften des HbF im Gegensatz zum HbA des Erwachsenenblutes ergaben.

Unsere eigenen Versuche, die sich darauf aufbauend mit dem Vorkommen fetaler roter Blutkörperchen im mütterlichen Blut beschäftigen, ergaben folgende Ergebnisse:

1. Die Werte des HbF-Gehaltes im mütterlichen Blut, im Retroplacentarblut und im Nabelschnurblut bei normalen Geburten, die wir durch die von Betke angegebene Methode "zur Darstellung fetaler Erythrocyten im mikroskopischen Ausstrichpraeparat" gewonnen haben, stimmen mit denen anderer Autoren die meist mit spektrometrischen Methoden gearbeitet haben, überein.

Wir schlossen daraus auf eine hinlängliche Genauigkeit unserer Methode als Grundlage für die weiteren Untersuchungsergebnisse.

2. Wir zeigten den Anstieg des HbF-Gehaltes im mütterlichen Venenblut im Laufe der Schwangerschaft und fanden einen Durchschnittswert zum Zeitpunkt der Entbindung von 1,0855 % HbF des Gesamt-Hb.

3. Die HbF-Werte Rh-Mütter stimmen mit denen rh-Mütter ohne auftretende

Antikörper überein.

4. Der mütterliche HbF-Gehalt bei Geburten von Kindern, die durch die Sensibilisierung mit Rh-Antikörpern geschädigt waren oder gar in utero abgestorben waren, ist statistisch nicht signifikant gegenüber den Durchschnittswerten erhöht.
   Die Tatsache des Übertrittes fetaler Erythrozyten in den mütterlichen Kreislauf ist jedoch einwandfrei bewiesen.

In der anschließenden Diskussion wird diese Tatsache mit der von Bickenbach geforderten Rhexis- und Diapedeseblutung als Sensibilisierungsmechanismus in Zusammenhang gebracht, und als weiterer Beweis dieser Theorie aufgefaßt.

Veranlaßt durch die in neuerer Zeit immer wieder ausgesprochene Forderung nach einer rechtzeitigen Einweisung bei Auftreten eines M.h.n., die die Aussichten auf eine erfolgreiche Therapie möglich macht, wurde die Möglichkeit erörtert, unsere Ergebnisse als Grundlage für eine Frühdiagnose der kindlichen Schädigungen zu betrachten.

G. LITERATURVERZEICHNIS

1. Betke, K. — "Hämoglobin, quantitative Daten u. klinische Fragen". in: Physiologische Entwicklung des Kindes, Springer, 1959.

2. Kleihauer, E.
Braun, H.
Betke, K. — "Demonstration von fetalem Hb in Erythrocyten eines Blutausstriches."
Klin. Wschr. 35; 637/38, 1957

3. Kleihauer, E.
Betke, K. — "Fetales und bleibendes Hb in Erythrocyten und Erythroblasten von menschl. Feten u. Neugeborenen."
Blut, IV, H.5; 241, 1958

4. Berndt, H.
Bickenbach, W.
Feldmann, F. — "Bewertung des Rh-Antikörper-Titers in der Schwangerschaft."
Arch. Gyn 177; 183, 1950

5. Bickenbach, W.
Kivel, F. — "Mikroskopische Untersuchungen an Erythroplastoseplacenten."
Arch. Gyn. 177; 559/67, 1950

6. Bickenbach, W. — 27. Tg. der dtsch. Ges. für Gyn. Karlsruhe
Zbl. Gyn. 10; 1015, 1949

7. Billich, R. — "Blutausstrichuntersuchungen an retroplacentaren Haematomen zur Frage der Durchlässigkeit für korpuculäre Elemente des Feten."
Arch. Gyn. 181; 500/504, 1952

8. Bromberg, Y.M.
Abrahamow, A.
Salzberg, M. — "Fet. Hb im mütterlichen u. Nabelvenenblut in der Foetalentwicklung."
Hrefuah 50; Jerusalem, 145, 1956

9. Büchner, F. — Allgemeine Pathologie, 3. Aufl., Mü.-Berlin Urban und Schwarzenbg., S. 335

10. Diamond, L.K. — Ref. Arch. Kdhkde. 137; 124, 1943

11. Hempel, H.C.
Schmidt, L. — "Zur Prognose des M.haem.neonatorum."
Dtsche. Med. Wschr. 81; 1956

12.	Hörmann, G.	"Über die Pathol. der Placenta" Arch. Gyn. 189; 168, 1957
13.	Hörmann, G.	"Zur Systematik der Pathologie der Placenta" Arch. Gyn. 191; 297/344, 1958
14.	Beckmann, R. Feldmann, F. Schümmelfeder, N.	"Histolog. Untersuchungen von Erythroblastoseplacenten." Dtsch. med. Wschr. 79, 1157, 1954
15.	Krivit, W. Goodlin, R. Ziegler, E. Lienke, R.	"Foetomaternal Transfusion al a cause of Anaemia." Arch. Dis. Childh. 34; 178, 1959
16.	Drescher, H. Künzer, W.	"Hb-Typen des Neugeborenen." Arch. Gyn. 182; 698, 1953
17.	Künzer, W.	"Bestimmung des HbF mittels Alkalidenatur." Klin. Wschr. 940 - 943, 1957
18.		"Extinktionsmessung mit Zeiß-Universalspektrophometer" Zbl. Gyn. 82; H.13, März 1960
19.	Künzer, W.	"Zur Bestimmung des fetalen Hb." in: Blutfarbstoffwechsel gesunder Säuglinge und Kinder. Basel 1951
20.	Laake, L.	"Perinatale Sterblichkeit an der I. Univ. Frauenkl. Mü. nach Einrichtung einer Frühgeborenenstation." Diss. 1957, München
21.	Levine, Ph. Katzin, E.M. Burnham, L.	J. Amer. Med. Assoc. 116; 825, 1941
22.	Lebine, Ph. Schwartz, S.O.	J. Amer, Obstret. 46; 827, 1943
23.	Seelen, J.C.	"Ist Rhesus-Antigen in der Placenta nachweisbar?" Ned. T. Verlosk, 58; 322, 1958
24.	Martius, G.	"Pathogenese des M.haemol.neonatorum." Mon., München, Thieme, 1956

25. Martius, G. "Histolog. Untersuchung der Placenta zur Pathogenese des M.haemol.neonat." Zbl. Gyn. 52; 1956

26. Martius, G. "Zum Nachweis des Antigen Rh im Gewebe." Zbl. Gyn. 80; 1958

27. Martius, H. Lehrbuch der Geburtshilfe, 4. Auflage Stuttgart, Thieme; S. 672, 1956

28. Neumeyer, F. "Fetales Hb im Nabelschnurblut Neugeborener bei Übertragung." Zbl. Gyn. 13; 481, 1960

29. Oehlert, G. Michel, K. "Fetaless Hb beim Neugeborenen." Sonderdruck aus Arch. Gyn. Bd. 193

30. Oehlert, G. "Fetales Hb im Retroplazentarblut." Helsinki, 1 D 3

31. Oehlert, G. Michel, K. Mohrmann, H. "Fetales Hb im retroplazentaren Haematom." Arch. Gyn. 192; S. 656, 1960

32. Thomsen, K. Berle, P. "Plazentarbefunde bei Rh-Inkompatibilität" Arch. Gyn. 192; 628 - 643, 1960

33. Potter, E.L. "Über die Morbidität bei heterospezifischen Schwangerschaften." Year Book Publishers, Chicago. 1947

34. Schaumkell, K.W. "Klin. und serologische Beurteilung mütterlicher Antikörpertiter." Zschr. Gebh. 151; 129, 1958

35. Singer, H. Chernoff Blood, 6; 431, 151

36. Weimer, R.M. Child, W. Garvie, J.M. "Foetal Cells in the matern circulation during pregnancy." British M.I. No. 5099, 27.9.1958

37. Wiener, A.S. Wexler, D.B. "Erythroblastosis foetalis und Blutausstausch" Stuttgart, Thieme 1950

38. Wiener, A.S.
Landsteiner, K.
Proc. Soc. exp. Biol. aus Med. Am. 43; 223, 1940

39. Wiener, A.S.
Sonn, E.B.
Amer. J. Dis. Childr. 71; 25, 1946

40.
Wissenschaftliche Tabellen, S. 14
Geigy, Basel, 4. Aufl. 1953

41. Krebs, H.
Haupt, H.
"Klinische Erfahrungen über die Behandlung von 168 Erythroblastosen."
Mon. Schr. f. Khkde. 107; 3, 120-121, 1959

LEBENSLAUF

Am 27.11.1936 wurde ich, Margarete Luise Kratz, als drittes Kind des Dipl.Ing. Paul Kratz und seiner Ehefrau Irmgard, geb. Dreisbach in Dessau geboren. 1942 wurde ich dort in der Volksschule eingeschult, besuchte dann die Volksschule in Ballenstedt/Harz und kehrte bei Kriegsende nach Dessau zurück. Nach der Besetzung Dessaus wurde mein Vater 1946 von der russischen Besatzungsmacht wegen seiner Tätigkeit bei Junkers interniert und starb 1947 im Lager Bautzen. Wir wurden aus der sowjet. besetzten Zone ausgewiesen, und ich besuchte 1947 das Realgymnasium in Gelnhausen/Hessen, bis ich am 1.12.1947 in das Städt. Gymnasium Mettman/Rhld. kam. Dort machte ich 1955 mein Abitur. Nach einer halbjährigen Ausbildung in der Landfrauenschule Wittgenstein begann ich 1956 mein Medizinstudium in Freiburg/Br.

Im Sommer 1958 bestand ich nach 3 Semestern Studium in Hamburg dort mein Physikum. Während der klinischen Semester studierte ich in Wien, Düsseldorf und München, wo ich im Dezember 1961 mein Staatsexamen abschloß.

Herrn Professor Dr. W. Bickenbach möchte ich hiermit für die Überlassung des Themas und die Übernahme des Referates danken. Ebenfalls bin ich Herrn Dr. med. E. Hickl für die Unterstützung bei meiner Arbeit sehr dankbar.